

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A) 平2-49593

⑪ Int. Cl.³

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 平成2年(1990)2月19日

C 12 P 13/00
A 23 J 7/00

7236-4B
7236-4B

審査請求 未請求 請求項の数 11 (全4頁)

⑭ 発明の名称 リゾレシチンの製造方法

⑮ 特 願 昭63-198785

⑯ 出 願 昭63(1988)8月11日

⑰ 発 明 者 高 橋 秀 和 埼玉県和光市本町31-16-515

⑱ 発 明 者 日 暮 正 和 千葉県成田市北羽鳥1787

⑲ 発 明 者 渡 辺 睦 人 千葉県市川市南大野1-40-12 昭和産業市川社宅501

⑳ 出 願 人 昭和産業株式会社 東京都千代田区内神田2丁目2番1号

㉑ 代 理 人 弁理士 中 島 敏

明 細 書

1 発明の名称

リゾレシチンの製造方法

2 特許請求の範囲

(1) 粗原油にホスフォリパーゼA活性を有する酵素を作用させ粗原油中のリン脂質を酵素処理するリゾレシチンの製造方法。

(2) 粗原油の脱ガム工程において、ホスフォリパーゼA活性を有する酵素液でガム質を水和させて粗原油中のリン脂質を酵素処理するリゾレシチンの製造方法。

(3) 粗原油の脱ガム工程において、ガム質の水和物にホスフォリパーゼA活性を有する酵素を作用させて粗原油中のリン脂質を酵素処理するリゾレシチンの製造方法。

(4) 粗原油100重量部に対し、加水量が0.5～3重量部である請求項(2)ないし(3)記載のリゾレシチンの製造方法。

(5) 粗原油をホスフォリパーゼA活性を有する固定

化酵素に接触させて粗原油中のリン脂質を酵素処理するリゾレシチンの製造方法。

(6) 水を溶解せしめた粗原油を固定化酵素に接触させる請求項(5)記載のリゾレシチンの製造方法。

(7) 固定化酵素の水分散液を粗原油に接触させる請求項(5)記載のリゾレシチンの製造方法。

(8) 粗原油に対し、全量溶解可能な量のホスフォリパーゼA活性を有する酵素液を添加して、粗原油中のリン脂質を酵素処理するリゾレシチンの製造方法。

(9) ホスフォリパーゼA活性が、リン脂質1kg当たり、100～50,000Uである請求項(1)ないし(8)記載のリゾレシチンの製造方法。

(10) 酵素処理の温度が30～90℃である請求項(1)ないし(9)記載のリゾレシチンの製造方法。

(11) ホスフォリパーゼA活性を有する酵素が、動物、植物または微生物由来である請求項(1)ないし(10)のリゾレシチンの製造方法。

3 発明の詳細な説明

特開平 2-49593(2)

(産業上の利用分野)

本発明は、油類からリゾレシチンを効率的に製造する方法に関するものである。

(従来の技術とその問題点)

本願でいうレシチンとは、リン脂質を主成分とするホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルイノシトール等の混合物をいう。

レシチンは、天然の界面活性剤や乳化剤としての機能を有し、とくに乳化剤として食品工業全般にわたり広く使用されている。また、潤滑油、燃料油、織物工業、電気記録媒体の表面処理剤として工業的に広い用途を有している。また、レシチンに血中コレステロール低下作用等の生理活性があることが見出され、健康食品もしくは医薬分野での用途も注目されている物質である。

レシチンは、製油工業において、油原料を圧搾して得た圧搾油、あるいは大豆等の油種子をソルマルヘキサン等の溶剤で抽出して得た粗油（以上

を「粗原油」と総称する）水を加えて加温攪拌することにより、水和析出する成分は一般にガム質と呼ばれ、リン脂質を主成分として含有するため、これを必要に応じて適宜精製した後、乾燥して製造される（このガム質を水和析出させて粗原油から除去する工程は脱ガム工程と呼ばれる）。

レシチンは、前記のように天然の乳化剤としての機能を有し、種々の目的に広く使用されているが、しかし、他の乳化剤と比較したとき、親水性、疎水性のいずれの面でも充分とは言えず、また乳化安定性の点でも問題があった。

他方、リゾレシチンは、レシチンのアシル基におけるエステル結合1個所が加水分解され、OH基が付加したものであるが、乳化剤としての機能はレシチンよりも強化され、また乳化安定性も大きい。

しかし、リゾレシチンは天然にはごく微量しか存在しないので、レシチンを物理的方法、化学的方法または酵素的方法で分解しリゾレシチンを製造する方法が探索されていた。

- 3 -

例えば、特開昭46-13263号は、大豆ベーストレシチン（リン脂質65%含有）に対し、2倍量の（リン脂質に対し3倍量）の水を添加し、攪拌反応を行ってリゾレシチンを製造することが開示されていた。

また、酵素を用いる方法としては、レシチンにホスフォリパーゼA₁、または、ホスフォリパーゼA₂（以下「ホスフォリパーゼA」と総称する）を作用させて、脱アシル化してリゾレシチンを得る方法があり、例えば、特開昭62-279832号には、レシチンのアセトン不溶物1部当たり0.1〜1.5モルのアルカリとホスフォリパーゼAを添加して酵素処理をするモノアシルリン脂質含有乳化剤の製法が開示されていた。また特開昭63-44893号には、動物物のリン脂質1（重量）部に対し、水0.1〜1.0（重量）部を加え、ホスフォリパーゼAを作用させて、静置反応によりリゾリン脂質を得る方法が開示されていた。

しかし、これら従来の技術では、多量の水の添加が必要であったり、pHの調整が必要であったり、あるいは一たんレシチンを通常の製造工程で製造したうえで、あらためて、これをリゾレシチンに分解する工程が必要である等複雑な工程を延なければならなかった。また、必要な酵素量も多く、製品中に酵素活性が残存する可能性もあり、失活条件を強化する等のコストアップの原因となる要素も多かった。

(問題点を解決するための手段)

本発明者らは、リゾレシチンの効率的な製造方法について鋭意研究を続けた。その結果、粗原油中に存在するリン脂質に直接ホスフォリパーゼA活性を有する酵素を使用させる製造方法によって、特段の工程を増加させることなく、高反応率をもってリゾレシチンが得られることを見出した。しかも、本発明の方法によれば、酵素の使用量もすくなく、またアルカリ等の中和剤を添加しなくとも、本発明を実施することができる等の利点が見出された。

本発明は、粗原油に対して、ホスフォリパーゼ

- 4 -

- 5 -

特開平 2-49593(3)

A活性を有する酵素をもって処理することによってリゾレシチンを製造するものである。酵素処理は、例えば、粗原油にガム質を水和させるのに必要な加水を行い、攪拌しながら加熱し、ガム質を水和溶解させてこれを分離する脱ガム工程において行ってもよい。この場合の酵素処理の方法としては、例えば、ネスフォリパーゼA活性を有する酵素液でガム質を水和させる、予め粗原油に加水してガム質を水和させ次いでネスフォリパーゼA活性を有する酵素を添加する、等がある。

このように脱ガム工程で酵素処理を行う方法を採用するならば、従来の脱ガムの工程や設備に特段の変更を加えることなく実施できるので特に有利である。

この他本発明によるリゾレシチンの製造方法としては、高濃度の酵素液を、その水分が全量粗原油に溶解する程度ないしガム質の全体が水和折出ししない程度に加えて酵素処理を行う方法、また、固定化酵素を水を溶解した粗原油に作用させる、固定化酵素の水分散液を粗原油に加えて作用させ

る等、固定化酵素によって行う方法を挙げることができる。

このような酵素処理を逐次粗原油からリゾレシチンを分離回収するには、更に反応液に水を加えてガム質を水和折出させる方法、例えばn-ヘキサンと80%エタノール水溶液等の溶媒系を用いる液々抽出、超臨界二酸化炭素による分別抽出等、公知の方法を採用することができる。

脱ガムに用いる加水量は、粗原油100重量部に対して、0.5〜3重量部が適当であり、これにより粗原油中のガム質は殆ど全て水和される。本発明においても上記の加水量を採用することができる。しかし、本発明においては、粗原油に対し、全量溶解可能な量のネスフォリパーゼA活性を有する酵素液を添加して、粗原油中のリン脂質を酵素処理し、リゾレシチンを製造することもできる。この場合酵素液の量は粗原油中に全量溶解可能な量、すなわち、本発明の処理温度においては、粗原油100重量部に対して0.2〜0.5重量部でよい。

- 7 -

また、ネスフォリパーゼA活性は、リン脂質1kgに対してわずかに100じ以上あれば良好な結果が得られるが、リン脂質1kgに対して300じ以上あればさらに望ましい。他方50,000じを超えても活性の増加に比例した好結果を得ることはむずかしい。

なお、ネスフォリパーゼA活性は、以下の反応系において、1分当たり1マイクロ当量の遊離脂肪酸を生成する酵素量を1リとした。

基質	卵黄エマルジョン
カルシウム濃度	6 mM
反応時間	5〜10分
温度	40℃
pH	8.0

温度条件としては、水和時30〜90℃で酵素反応の進行がみられるが、望ましくは40〜80℃で最も良好な活性がみられる。遠心分離時の温度は常法(60〜80℃)程度でよいが、リゾ化が進んだ段階では30℃程度の低温でも良好な分

- 8 -

離が行える。

反応時間は、目的とする製品のリゾ化率、使用する酵素の活性度、温度等の反応条件を勘案して適宜決定されるが、通常、1分〜1週間である。

本発明で使用する酵素は、ネスフォリパーゼA活性を有する酵素であればよく、動物、植物、微生物由来のいずれであってもよい。工業的にはノズレクローゼ(商品名)等が利用され、またヘビ毒由来のものやStreptomyces violaceoruber等微生物由来のものも利用される。使用する酵素はリパーゼ活性が低いもののほうがよく、リパーゼ活性が検出されなければ最も望ましい。

本発明の方法によって得られたリゾ化率の高いリゾレシチンは、さらにシリカゲル、セルロースイオン交換体等の適宜の担体を用いた液体クロマトグラフ、一等適宜の方法で精製することができる。

(発明の効果)

本発明の方法によれば、従来の技術に比して、はるかに短い工程によってリゾレシチンを得ることができ、酵素の使用量も少なく、また水の利用量も少なく、pHの特設の調整等も要しない。したがって、工業的生産に際して大巾なコストダウンが可能となる。それにもかかわらず、充分な高反応率でリゾレシチンを得ることができる。

(実施例)

以下、本発明の実施例を示すが、もとより本発明の範囲が以下の実施例に限定されるのではない。
実施例 1、

大豆粗原油 600 g に対し、ホスフォリパーゼ A 活性 10 U を含む酵素液 12 ml を加え、70℃で、30 分間、240 rpm の条件のもとで攪拌したのち、3000 rpm で 5 分間遠心分離を行い、水和ガム質 22.5 g を得た。この水和ガム質を 70℃で 24 時間保持し、ロータリースポレーターで脱水し、ペースト状のレシチンを得た。得られたレシチンのリゾ化率（全リン脂中のリゾ

- 11 -

実施例 2

大豆粗原油 600 g に対し、ホスフォリパーゼ A 活性 600 U を含む酵素液 12 ml を加え、70℃で、30 分間、240 rpm の条件のもとで攪拌したのち、3000 rpm で 5 分間遠心分離を行い、水和ガム質 17.2 g を得た。この水和ガム質をロータリースポレーターで脱水し、ペースト状のレシチンを得た。

得られたレシチンのリゾ化率は、80.5% であった。

比較例 2

大豆粗原油 600 g に水 12 ml を加え、70℃で、30 分間、240 rpm の条件のもとで攪拌したのち、3000 rpm で 5 分間遠心分離を行い、水和ガム質 25.5 g を得た。この水和ガム質にホスフォリパーゼ A 活性 600 U を有する水 1 ml を加え、均一に混和し、70℃で、2.5 時間保持し、ロータリースポレーターで脱水して

- 13 -

特開平 2-49593(4)

リン脂質の割合、すなわち、ホスファチジルエタノールアミン (PE) + リゾ化ホスファチジルエタノールアミンに対するリゾ化ホスファチジルエタノールアミンの百分率。高圧液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて金子らの方法 (Agric. Biol. Chem., 51(7), 2023~2024 (1987)) により分離分析した。以下同じ。) は 32.5% であった。

比較例 1

大豆粗原油 600 g に水 12 ml を加え、70℃で、30 分間、240 rpm の条件で攪拌したのち、3000 rpm で 5 分間遠心分離を行い、水和ガム質 24.2 g を得た。その後、この水和ガム質にホスフォリパーゼ A 活性 10 U を有する水 1 ml を加え、均一に混和し、70℃で、2.5 時間保持し、ロータリースポレーターで脱水して、ペースト状のレシチンを得た。

得られたレシチンのリゾ化率は、12.1% であった。

- 12 -

ペースト状のレシチンを得た。

得られたレシチンのリゾ化率は 18.5% であった。

実施例 3

大豆粗原油 600 g に対し、ホスフォリパーゼ A 活性 60 U を含む酵素液 12 ml を加え、70℃で、240 rpm の条件のもとで攪拌したのち、実施例 2 と同様にして、ペースト状のレシチンを得た。

水和攪拌の時間毎におけるレシチンのリゾ化率は次のとおりであった。

水和攪拌時間	リゾ化率
30 分	11.7
2 時間	24.9
5 時間	35.1
24 時間	76.5

特許出願人 昭和産業株式会社
代理人 中 島



- 14 -